

B-S4-23

SRPX1 基因在卵巢癌组织的表达和作用

唐文芳¹, 郑晨², 孙洁², 金多晨¹, 张建宇¹; 指导教师: 邓艳秋, 赵纲

1. 天津医科大学 2011 级临床七年制
2. 天津医科大学 2011 级基础医学院病生教研室

【立论依据】 SRPX1(别名 drs/EXT1), 在人类的多种肿瘤细胞系(包括结肠、膀胱、睾丸、肺等)以及癌组织中 drs mRNA 的表达量显著降低, 暗示了 drs 基因在抑制肿瘤形成过程中所发挥的作用。由 drs 基因介导的细胞凋亡和自我吞噬反应可以作为其肿瘤抑制作用的分子基础。

【设计思路】 以正常卵巢组织为对照进行临床病例分析: 设 5 个实验组: 正常卵巢组织、卵巢良性黏液性肿瘤组、卵巢交界性黏液性肿瘤组、卵巢恶性黏液性肿瘤组(腺癌, 原发灶)、卵巢恶性黏液性肿瘤组(腺癌, 转移灶)。应用免疫组化的方法, 检测 SRPX1 表达状况, 探索 SRPX1 基因与肿瘤发生及患者生存率和复发率等临床参数的关系; 采用代表性的 HO-8910(低转移性的人卵巢癌细胞株)、HO-8910pm(高转移性的人卵巢癌细胞株)为研究对象, 用免疫组化和蛋白质印迹法检测 SRPX1 蛋白表达情况; 采用基因敲除技术, 特异性的敲除正常卵巢组织细胞的 SRPX1 基因, 用免疫组化和蛋白质印迹法检测 SRPX1 蛋白表达情况, 并观察正常卵巢组织细胞的生长情况。

【实验内容】 为了阐述 SRPX1 基因在上皮型卵巢癌的发生、转移中所发挥的作用, 本研究通过临床病例分析, 细胞培养和特异性的敲除正常卵巢组织细胞的 SRPX1 基因, 检测和分析 SRPX1 基因在卵巢癌组织的表达和作用。

【材料】 临床病理组织, 细胞培养基, 试剂, 抗体, 操作器械, 实验仪器。

【可行性】 和正常卵巢上皮组织对比, SRPX1 蛋白在人卵巢癌细胞株中表达明显降低, 与恶性程度相关, 在高转移的细胞系表达减低。

【创新性】 本项目所要阐明的实验现象和机制, 即对 SRPX1 基因在卵巢癌组织的表达和作用分析后, 为开发新的肿瘤治疗药物提供理论依据。本课题基于我们最新的发现基础上, 目前国际上还没有这方面的研究报告, 据有很好的创新性和前沿性。

关键词: SRPX1; 肿瘤; 抑癌基因; 表达差异; 相关性

B-S4-24

宫颈肿瘤组织高危型 HPV 新分型方法的建立

王慧静¹, 陈键¹, 林敏敏²; 指导教师: 薛向阳

1. 温州医科大学 2011 级临床医学
2. 温州医科大学 2013 级临床医学

【立论依据】 高危型 HPV 在感染过程中产生的病毒源性癌蛋白 E6、E7 在宿主细胞中呈过度表达, 是致宫颈癌的关键因素。已经证实, 病毒基因组整合到宿主染色体是 HPV 致癌的重要因素。HPV DNA 的整合不但改变整合位点及临近宿主基因的表达, 而且可使 HPV 衣壳蛋白基因(L1 和 L2)片段缺失, 这严重限制了目前临床上使用的基于 L1 基因序列的 HPV 检测及分型。本研究拟选择宫颈癌组织高表达的 E6、E7 基因序列, 设计特异性探针及引物, 优化 PCR 条件, 建立高危型 HPV 检测到的多重 PCR 技术, 可快速对宫颈癌组织中高危型 HPV 进行检测和分型。

【设计思路】 设计 HPV 不同型别 E6/E7 特异性探针及引物, 优化 PCR 条件, 扩增宫颈肿瘤组织标本中高危型 HPV E6/E7 基因, 结合测序, 建立高危型 HPV 检测到的多重 PCR 技术, 对宫颈癌组织高危型 HPV 进行检测和分型, 并与目前临床上广泛使用的检测方法比较, 验证该方法的敏感性和特异性。

【实验内容】 收集低度上皮内瘤变(LSIL)、高度上皮内瘤变(HSIL)和宫颈癌组织样本等不同类型的宫颈肿瘤组织标本,抽提 DNA;根据高危型 HPV 早期基因 E6/E7 基因序列,在同源性分析的基础上,设计 HPV 不同型别的 E6/E7 特异性探针及引物,PCR 扩增宫颈肿瘤组织标本 DNA,通过基因测序验证 PCR 扩增的特异性;进一步优化 PCR 条件,建立高危型 HPV 检测到的多重 PCR 技术,检测宫颈肿瘤组织标本中 HPV 感染及型别,并与目前临床上使用的检测试剂盒比较,分析检测的灵敏性和特异性。

【材料】 LSIL 组织样本、HSIL 组织样本和宫颈癌组织样本各 30 例;HPV16+Siha 细胞、HPV18+Hela 细胞;不同型别 HPV 的 E6/E7 特异性探针及引物;高保真 PCR 酶及反应体系;琼脂糖凝胶电泳及毛细管电泳检测系统等。

【可行性】 本项目立论依据充分,标本来源丰富,前期预实验已运用此方法对高危型 HPV16/18 完成初步分型。

【创新性】 迄今尚无相关研究报道。本检测方法的建立为我国高危型 HPV 流行检测及宫颈癌疫苗的推广奠定基础。

关键词: 早期基因 E6/E7;基因分型;人乳头瘤病毒;宫颈癌;疫苗

B-S4-25

原发性肝细胞癌中 KIAA0101 基因转录变异体 2 对转录变异体 1 的抑制作用研究

廖建明;指导教师:朱 帆

武汉大学 2010 级临床医学八年制

【立论依据】 原发性肝细胞癌(HCC)是全球第三大致死的肿瘤类型,恶性程度高,预后差。基于本实验室构建的 HCC 病人癌组织和正常组织的差异表达库,我们筛选到了一系列与 HCC 相关的差异表达蛋白,其中包括 KIAA0101 蛋白。KIAA0101 与 DNA 的复制、损伤修复以及细胞周期有关。KIAA0101 有两种转录变异体(transcript variant, tv),KIAA0101 tv1 参与 DNA 复制和修复,而 tv2 功能未见报道。本实验室研究发现 tv1 的 mRNA 和蛋白在肝癌细胞系中比癌旁组织中表达量高,并能抑制多柔比星诱导的细胞凋亡;在肝癌细胞系 HepG2. 2. 15 中,tv2 表达量明显低于 tv1,转染 tv2 过表达能够下调 tv1 的 mRNA 水平。因此,我们推测 KIAA0101 的两种转录变异体在肝细胞癌的形成和发展过程中起到了不同的作用。

【设计思路】 我们检测发现 KIAA0101 tv1 和 tv2 在肝癌组织中的表达有差异,所以我们进行 tv1 和 tv2 的生物学活性的比较研究;前期实验发现 KIAA0101 tv2 能够抑制 tv1 在 HepG2. 2. 15 中的表达,所以我们进行 KIAA0101 tv2 对 tv1 的表达及功能的调控研究。

【实验内容】 (1)肝癌组织及癌旁组织、多种肝癌细胞系中 KIAA0101 tv1 和 tv2 的表达情况,及其在肝癌细胞系中的细胞亚定位研究;(2)KIAA0101 tv1 和 tv2 生物学活性的比较研究;(3)KIAA0101 tv1 和 tv2 对 KIAA0101 promoter 的调控研究;(4)KIAA0101 tv2 过表达对 tv1 表达及功能的抑制作用的研究。

【材料】 原发性肝癌组织及癌旁组织,多种肝癌细胞系(HepG2、HepG2. 2. 15、Huh-7、HCCLM3、BEL7402)

【可行性】 (1)本实验室多年围绕肝癌分子机制及防治方向进行了长期的课题探索,对于 KIAA0101 基因致原发性肝细胞癌的研究已取得重要进展,成果于 2012 年发表于 Hepatology 杂志。(2)本实验室前期实验发现,在肝癌细胞系 HepG2. 2. 15 中,KIAA0101 tv2 的表达量明显低于 tv1,tv2 的过表达能抑制 tv1 的 mRNA 水平。(3)本实验室具备完成本课题所需的所有仪器,承担并参与了多项国家、省部级项目,专业背景扎实。

【创新性】 (1)关于 tv2 的功能研究目前尚无报道,而我们实验发现 KIAA0101 两种转录变异体在肝癌组织表达不同,此研究对于了解肝细胞癌中 KIAA0101 两种转录变异体的相互作用具有重要意义。(2)我们前期实验发现 KIAA0101 tv2 过表达能够抑制 tv1 的 mRNA 水平,此实验可能为肝细胞癌的分子治疗提供新的思路。

关键词: 原发性肝细胞癌、KIAA0101、转移变异体、细胞迁移、癌基因活性